Aus der Medizinischen Klinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. med. N. Henning

Immunologische Studien über die Antigenität von Zellkernsubstanzen und über Zellkern-Antikörper

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
zu Erlangen-Nürnberg 1963

Vorgelegt von:

Antoine Assaf
aus Roum/Libanon

1963/№ 105

Dekan: Prof. Dr. G. Theissing
Referent: Prof. Dr. N. Henning
Tag der mündlichen Prüfung: 30. 9. 1963

Sonderdruck aus „Zeitschrift für Rheumaforschung“
Band 21 *Februar 1962* *Heft 1/2*
Dr. Dietrich Steinkopff Verlag, Darmstadt

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Aus der Medizinischen Universitäts-Klinik Erlangen
(Direktor: Prof. Dr. N. Henning)

Immunologische Studien über die Antigenität von Zellkernsubstanzen und über Zellkern-Antikörper*)

Von N. Henning, W. Frenger, F. Scheiffarth und A. Assaf

Mit 4 Tabellen

(Eingegangen am 15. Dezember 1961)

Mit der Entdeckung des LE-Phänomens und der Erkenntnis, daß dieses Phänomen morphologischer Ausdruck der Wirkung eines antinukleären Faktors ist (11, 14, 24, 26), gewannen bei gewissen Krankheitsgruppen Zellkernsubstanzen erhöhtes Interesse. In den vergangenen Jahren wurde vor allem beim Lupus erythematodes disseminatus (LED), in Einzelfällen auch bei der primär chronischen Polyarthritis (pcP) weitere Antizellkernfaktoren

*) Herrn Professor Dr. R. Schoen zum 70. Geburtstag gewidmet.

nachgewiesen (1, 2, 5, 6, 7, 9, 10, 15, 16, 19, 22). Es handelt sich dabei in der Hauptsache um den Desoxyribonukleinsäure-, Nukleoprotein- und Histonfaktor. Sie treten mit DNS, Nukleoproteinen und Zellkern-Histonen in Reaktion, weshalb in diesen Substanzen das korrespondierende Antigen gesehen wird. Sie selbst werden auf Grund ihrer Eigenschaften als Antikörper betrachtet.

Der Nachweis dieser Faktoren wird mit Agglutinationsmethoden sowie der Komplementbindungsreaktion (KBR) geführt (5, 7, 9, 10, 15, 19, 22); außerdem werden zu diesem Zweck Antihumanproteine fluoresziert (1, 2, 11, 12).

Die Präzipitation bleibt hier als Nachweismethode problematisch, da manche Antigene, z. B. Desoxyribonukleinsäure, keinen proteinen Charakter haben, und andererseits die dagegen gebildeten Antikörper vielfach inkomplett sein können und somit nicht präzipitieren.

Eigene Untersuchungen hatten zum Ziel, die Antigenität von Zellkernsubstanzen im Experiment zu prüfen und den Nachweis entsprechender Antikörper methodisch zu führen; insbesondere sollte hierbei die Frage geklärt werden, ob sich Präzipitationstechniken zur Feststellung solcher Antikernfaktoren eignen. Gleichzeitig wurden weitere, für diese Gruppe charakteristische serologische Reaktionen ausgeführt. Schließlich sollte auch an einer größeren Zahl von primär chronischen Polyarthritis-Kranken und an einigen Fällen von LED festgestellt werden, ob Zellkern-Antifaktoren durch eine Agardiffusion und Präzipitation nachzuweisen sind.

Material und Methodik

Antigene: Verwendung von

1. Desoxyribonukleinsäure (DNS, niedermolekular vom Hering)
2. Nukleoproteide (NP)
   a) aus Kalbsthymus *)
   b) nach einem neuen Verfahren hergestelltes und lyophilisiertes Nukleoproteid aus Kalbsthymus **)

Immunisierungsmodus:

1. *DNS.* 4 Kaninchen wurde je 300 mg DNS jeden 2. Tag, insgesamt sechsmal, injiziert. Nach einer Pause von 2 Wochen erhielten die Tiere zwei Auffrischungsinjektionen; desgleichen nach weiteren 2 Wochen. Blut wurde erstmalig nach 8 Tagen entnommen, sodann alle 10 Tage.
2. *NP.* Gleiche Anzahl Kaninchen, von gleichem Gewicht; pro Injektion jedoch nur 150 mg NP, da ein Tier während der Immunisierung unter höherer Dosis an einem anaphylaktischen Schock einging.

Immunseren:

1. Tierseren: Sie wurden nach Entnahme vom Blutkuchen getrennt und eingefroren.
2. Menschliche Seren: Gleiches Verfahren.

*) Gewinnung nach der bei Hoppe-Seyler, Handbuch der physiologischen Chemie, Band IV, angegebenen Technik.

**) Dieses Nukleoproteid wurde uns freundlicherweise von der Hormonchemie München, zur Verfügung gestellt.

Antikörper-Nachweise

1. *Präzipitation.* Für diesen Zweck wurde die Agardiffusionsmethode nach Ouchterlony herangezogen. Das entsprechende Antigen, DNS oder NP, wurde in die Mitte der Schale appliziert. Nach Diffusion von mindestens 10 Tagen wurde den Schalen 2%ige Essigsäure zugegeben.
2. *Passive Hämagglutination.* Nach Untersuchungen von Lee und Epstein (19) und eigenen Erfahrungen (10) ist diese Methode nach Adsorption von DNS oder NP an tannierte Erythrozyten zum Nachweis von Antikernfaktoren geeignet. Als Antigene wurden die genannten Substanzen verwandt. Hinsichtlich technischer Einzelheiten darf auf die Literatur verwiesen werden (4, 25).
3. *Latexfixationstest.* Er wurde nach der Methode von Singer und Plotz (27) vorgenommen, deren Einzelheiten als bekannt vorausgesetzt werden dürfen.
4. *LE-Phänomen* (als Ausdruck der Wirksamkeit von Kernantiseren). Zur Induktion eines LE-Phänomens wurde das gewonnnene DNS- und NP-Antiserum mit isolierten, angereicherten Kaninchenleukozyten sowie auch mit menschlichen Leukozyten zusammengebracht, bei 37° inkubiert und ein zellreicher Ausstrich angefertigt, der in üblicher Weise gefärbt wurde.

Ergebnisse

I. Nach Immunisierung der Tiere wurden die präzipitierenden und agglutinierenden Eigenschaften der entsprechenden Antiseren unter Verwendung von NP und DNS mit den angeführten Methoden untersucht. Es ergaben sich folgende Resultate:

Tab. 1. Präzipitation im Agar (Agargeldiffusionstest)

Datum	Reaktion mit							
	NP*)				DNS			
1961	1	2	3	4	5	6	7	8 (Tier)
26. 3.	ϕ	ϕ	ϕ		+	+	+	ϕ
6. 4.	—	ϕ	—		—	ϕ	—	—
14. 4.	—	ϕ	—		—	ϕ	—	—
26. 4.	—	ϕ	—		—	ϕ	—	—
8. 5.	—	ϕ	—		—	ϕ	—	—
20. 5.	—	ϕ	—		—	ϕ	—	—
24. 6.	—	ϕ	—		—	ϕ	—	—

ϕ = keine Präzipitation
\+ = Präzipitation

Eine Präzipitation ist demnach nur bei 3 mit DNS sensibilisierten Tieren im zuerst entnommenen Blute eingetreten.

Die mit NP sensibilisierten Tiere zeigten im zeitlichen Ablauf in ihrem Serum ~~also~~ immer wieder unter Verwendung von NP eine deutliche Agglutination; dagegen trat diese bei den DNS-Tieren später und wenig intensiv in Erscheinung. (Tab. 2)

*) Tier Nr. 4 ging nach einiger Zeit im anaph. Schock ein.

Tab. 2. Passive Hämagglutination mit NP und DNS

Datum	Reaktion mit							
	NP			DNS				
1961	1	2	3	5	6	7	8	(Tier)
26. 3.	+	+	+	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	
14. 4.	++	++	+	—	ϕ	—	—	
26. 4.	+	+	++	+	(+)	+	ϕ	
8. 5.	+	+	+	+	ϕ	ϕ	ϕ	
20. 5.	.....			+	+	+	ϕ	
24. 6.	+	+	+					

Hier ergaben sich insofern interessante Einzelheiten, als dieser Test bei den sensibilisierten im Gegensatz zu Normaltieren positiv ausfiel (Tab. 3).

Tab. 3. Latexfixationstest (Angabe der letzten noch positiven Titerstufe)

Tier	Datum 1961				
	12. 3.	26. 4.	8. 5.	20. 5.	24. 6.
1	ϕ	1:40	1:80	1:20	1:20
2	ϕ	1:20	1:20	ϕ	1:10
3	ϕ	ϕ	1:20	ϕ	1:10
5	ϕ	1:20	1:20	ϕ	
6	ϕ	1:20	1:40	ϕ	
7	ϕ	ϕ	1:20	ϕ	
8	ϕ	1:20	1:40	ϕ	

Vom 28. 4. bis 24. 5. wurde keine Antigen-Injektion verabreicht, worauf der Latexfixationstest sich rasch normalisierte. Der höchste Titer, der erreicht wurde, war eine Serumverdünnung von 1:80. Die Nukleoprotein-Tiere wiesen länger einen erhöhten Titer auf.

Induktion eines LE-Phänomens	Serum No	
a) Anti-DNS-Serum	5 ϕ	
+ Kaninchenleukozyten	6 +	
	7 ϕ	Serumkontr.
b) Anti-DNS-Serum	5 +	1 ϕ
+ Menschenleukozyten	6 +	2 ϕ
	7 ϕ	3 ϕ
c) Anti-NP-Serum	1 +	
+ Kaninchenleukozyten	2 +	
	3 +	
d) Anti-NP-Serum	1 +	
+Menschenleukyzyten	2 +	
	3 ϕ	

+ = einzelne LE-Zellen nachweisbar.

Es zeigte sich, daß nicht alle verwendeten Antizellkernseren ein LE-Phänomen zu induzieren vermochten. Die Zahl der LE-Zellen war insgesamt relativ klein. Bei den immunisierten Tieren selbst wurde kein LE-Zellphänomen beobachtet.

II. Neben den tierexperimentellen Untersuchungen einerseits wurde mit DNS und NP eine *Präzipitation mit Seren von Kranken mit pcP und LED* andererseits im Agargel versucht. Die Ergebnisse sind der folgenden Tabelle zu entnehmen. Die menschlichen Seren wurden dazu in normaler Konzentration (I) und zur Hälfte mit aqua dest. verdünnt (II) verwandt und jeweils doppelt angesetzt.

Mit den angeführten Krankenseren war unter Verwendung von DNS und NP als Antigene eine Präzipitation *nicht* zu erzielen; lediglich im Fall 9

Tab. 4. Agardiffusionstest (unter Verwendung von Krankenseren sowie DNS und NP)

	Präzipitation mit DNS				Präzipitation mit NP				
Serum (Kranke)	Untersuchung I		Untersuchung II		Untersuchung I		Untersuchung II		Diagnose
	a	b	a	b	a	b	a	b	
1	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	primär chron. Polyarthritis
2	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	" " "
3	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	" " "
4	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	" " "
5	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	" " "
6	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	" " "
7	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	" " "
8	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	" " "
9	ϕ	ϕ	+	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	" " "
10	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	" " "
11	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	" " "
12	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	" " "
13	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	Sjögren-Syndrom
14	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	" "
15	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	Periarteriitis nodosa
16	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	LED
17	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	LED
18	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	LED
19	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	ϕ	LED

ergab sich mit verdünntem Serum ein positiver Befund. Auch beim LED, wo sicherlich antinukleäre Faktoren vorhanden sind, trat keine Präzipitation in Erscheinung.

Diskussion

Die auch von anderer Seite getroffenen Feststellungen über das Vorkommen einer Reihe von serologischen Faktoren, so vor allem des LE-, DNS-, NP- und Histonfaktors sowie auch des Rheumafaktors bei der pcP und bei den sog. Kollagenkrankheiten spricht für eine Identität verschiedener *Gammaglobulinkomponenten* unter diesen Erkrankungen. Diese Tatsache läßt somit zugleich auf eine Verwandtschaft der chronischen Polyarthritis mit den sog. Kollagenosen, insbesondere dem LED, schließen (13, 16, 18, 26, 28). Zunächst kommt diesen Phänomenen ohne Zweifel klinisch-diagnostische Bedeutung zu. Der Nachweis der genannten Serumfaktoren wird mit Agglutinationsmethoden sowie mit Hilfe der KBR und durch fluoreszenzserologische Techniken geführt. Ergebnisse, die durch Präzipitation gewonnen wurden, sollten kritisch bewertet werden, da die erforderlichen Antigene, DNS, NP und Histone, nicht in eine präzipitationsfähige Form zu bringen sind; maßgeblich dürfte dabei die Größe des Moleküls sein. Unsere jetzigen Untersuchungsergebnisse unterstreichen dies. Sie zeigen, daß bei mehrfachen Präzipitationsversuchen mit Krankenseren an Fällen von pcP, LED, SJÖGREN-Syndrom und Periarteriitis nodosa unter Verwendung solcher Antigene praktisch in keinem Falle eine Präzipitation im Agar zu erzielen war. Die noch zu diskutierenden experimentellen Ergebnisse gehen in die gleiche Richtung. Dagegen konnten mit Agglutinationstechniken in einem hohen Prozentsatz antinukleäre Faktoren nachgewiesen werden, worüber bereits an anderer Stelle berichtet wurde (10).

Nun ist festgestellt worden, daß die Zellkern-Antikörper *einer* Spezies von Zellkernsubstanzen einer anderen Spezies gebunden werden (17). Eine Artspezifität dieser Antikörper kann somit nicht angenommen werden. Andererseits werden sie, z. B. beim LED, sogar von körpereigenem Zellkernmaterial gebunden, was einem autologen Vorgang entspricht und damit zugleich zu gewissen Schlüssen auf die Pathogenese einer solchen Erkrankung berechtigt (3, 20, 21, 28). Man kann also feststellen, daß die *Organspezifität* vor der Artspezifität rangiert. Unsere experimentellen Untersuchungsergebnisse wiesen ebenfalls die Kern- bzw. Organspezifität nach, indem mit dem gewonnenen Antiserum unter Verwendung spezieseigener und speziesfremder Leukozyten LE-Zellen erzeugt werden konnten.

Damit war zugleich die Frage zu verknüpfen, ob und mit welchen Zellkernsubstanzen ein Anti- oder Immunserum erzeugt werden kann. Auf Grund dieser Untersuchungen ist festzustellen, daß nach genügender Sensibilisierung mit Nukleoproteiden, ja sogar auch mit DNS, eine Antikörperbildung induziert werden kann. Sie war nach DNS-Sensibilisierung schwächer, nach NP-Sensibilisierung mäßig stark. Immerhin ist es interessant, daß auch die DNS, obwohl kein Protein, zu einer Antikörperbildung befähigt ist, wahrscheinlich durch ihre makromolekulare Struktur. Sie ist aber offenbar nur ein wenig potentes *Antigen*. Im Gegensatz hierzu konnten DUBOIS und KATZ bei Immunisierung mit Thymus-DNS keine Serumantikörper-Bildung feststellen (8). Möglicherweise ist dieses negative Ergebnis mit der Methodik des Antikörpernachweises zu erklären; denn aus vor kurzem von MIESCHER et. al. (23) veröffentlichten Untersuchungen ist zu entnehmen, daß

auch diese Autoren eine Antikörperbildung nach Sensibilisierung mit DNS mit Hilfe der KBR und der passiven Anaphylaxie nachweisen konnten, die bei gleichzeitiger Gabe von Desoxyribonuklease nicht eintrat. Im übrigen wurden Anti-DNS-Faktoren aber auch klinisch bei den hier interessierenden Krankheitsgruppen beobachtet. Im Hinblick auf die DNS-Struktur der Chromosomen war es naheliegend, anzunehmen, daß DNS-Antikörper besonders auf die Chromosomen einwirken könnten, was nach jüngeren Untersuchungsergebnissen tatsächlich der Fall ist (17).

Die Antigenität von Nukleoproteiden ist zwar potenter als die der DNS, jedoch war auch hier die Antikörperbildung, trotz „Booster"-Injektion, nicht sehr intensiv, eine Tatsache, auf die auch Miescher et al. (23) aufmerksam gemacht haben.

Der Nachweis der produzierten Antikörper wurde mit der passiven Hämagglutination geführt; eine *Präzipitation* mit DNS oder NP konnte zwar einmalig festgestellt werden; sie war aber späterhin nicht mehr zu reproduzieren. Sie ist somit als ein nicht spezifisches Ergebnis zu werten. Bei allen anderen Untersuchungen war keine Präzipitation zu erreichen. Als Ursache ist hier neben der Natur des Antigens auch die Art der gebildeten Antikörper zu diskutieren, insbesondere die Frage, wie weit inkomplette Antikörper das Ausbleiben von Präzipitations-Phänomenen verursachen. Ein weiterer interessanter und überraschender Befund ergab sich bei unserer Untersuchungsreihe in dem positiven Ausfall des *Latex-Gammaglobulin-Fixationstestes*. Zwar ist diese Reaktion kein spezifisches Phänomen; sie gilt jedoch im Hinblick auf ihren kaum positiven Ausfall bei normalen Individuen als sehr charakteristisch bei der Feststellung des Rheumafaktors. In unserer Untersuchungsreihe erreichte sie einen Höchsttiter von 1:80 und fiel nach längerer Sensibilisierung deutlicher aus. Ein Unterschied in ihrem Ergebnis zwischen NP- und DNS-Tieren war nicht sicher faßbar. Dieser Faktor, der bei der Sensibilisierung mit DNS und NP auftritt, läßt sich von den antinukleären Faktoren trennen; er geht mit diesen nicht parallel. Hier ergeben sich u. E. Beziehungen zur Klinik der sog. Kollagenkrankheiten und der pcP, wo der positive Ausfall des Latextestes ein Charakteristikum für diese Krankheitsgruppe darstellt. Offenbar tritt bei der Immunisierung mit Kernsubstanzen ein Gammaglobulin in Erscheinung, das wir von der Klinik als sog. Rheumafaktor kennen. Der konstant positive Ausfall des Latexfixationstestes spricht jedenfalls in diesem Sinne. Seine Vergesellschaftung mit antinukleären Faktoren auch im Experiment unterstreicht die Bedeutung der Beziehungen von Kollagenkrankheiten untereinander und zur pcP in der Klinik, andererseits kann sein Auftreten in diesem Rahmen aber auch als Beweis für seinen unspezifischen Charakter gewertet werden.

Im Rahmen unserer Immunisierungsversuche mit NP und DNS konnte kein dem LED adäquates oder auch nur entfernt ähnliches Krankheitsbild beobachtet werden.

Zusammenfassung

Es wird über Immunisierungsversuche mit NP und DNS an Tieren und über den Nachweis antinukleärer Serumfaktoren bei diesen Untersuchungen sowie beim Menschen berichtet. Es zeigte sich, daß DNS als schwaches Antigen, NP als ein mäßig potentes Antigen anzusehen ist. Die produzierten Antikörper besitzen keine Präzipitationsfähigkeit. Sie lassen sich nur mit Agglutinationstechnik und, wie von anderen gezeigt wurde, mit der Komplementbindungsreaktion (KBR) sowie dem

Antihumanglobulintest nachweisen. Bei den antinukleären Antikörpern hat die Organspezifität vor der Artspezifität den Vorrang. Bei Verwendung menschlicher und tierischer Leukozyten ließen sich mit dem Antiserum LE-Zellen erzeugen. Der Latex--Gammaglobulin-Fixationstest ist konstant positiv. Die Ergebnisse berechtigen insgesamt zu gewissen Schlußfolgerungen in pathogenetischer Hinsicht.

Résumé

Il s'agit d'un compte rendu sur un travail d'immunisation des lapins par nucléoprotéine (NP) et acide désoxyribonucléique (DNA), ainsi sur une démonstration des anticorps antinucléaires.

Ces facteurs antinucléaires ont été encore prouvés chez les maladas polyarthrites évolutives.

DNA agit comme un faible antigen, tandis que NP est un antigen plus fort. Les anticorps antinucléaires n'ont pas une réaction positive de précipitation. La démonstration d'anticorps a été prouvé par une réaction d'agglutination, ainsi par une fixation du complément.

Les anticorps nucléaires ont une rélation spécifiques avec les organes, et non pas avec la sorte.

Les leucocytes humains, ainsi que les leucocytes des lapins, provoquent avec l'anti – DNA et l'anti – NP-serum un phénomène LE.

Le test de fixation sur Latex est positive constant.

Les résultats sont discutés dans un hypothèse d'une origine immunologique des maladies collagènes.

Schrifttum

1. Alexander, W. R. M., J. M. Bremmer u. J. J. R. Duthie, Ann. Rheum. Dis. **19,** 338 (1960). – 2. Baugh, Ch. W., Ph. M. Kirol u. M. V. Sachs, Can. Med. Ass. J. **83,** 571 (1960). – 3. Bock, H. E., Ärztl. Wschr. **1956,** 537. – 4. Boyden, S. V., J. Exper. Med. **93,** 107 (1951). – 5. Deicher, H. R. G., H. R. Holman u. H. G. Kunkel, Arthr. Rheum. **3,** 1 (1960). – 6. Deicher, H., Klin. Wschr. **1960,** 104. – 7. Dörner, M., M. Enderlin, H. Spiegelberg u. P. Miescher, Dtsch. med. Wschr. **1961,** 378 und 431. – 8. Dubois, E. L. u. Y. J. Katz: Arthr. Rheum. **3,** 403 (1960). – 9. Fessel, W. J., Ann. Rheum. Dis. **18,** 255 (1959). – 10. Frenger, W. u. F. Scheiffarth, Intern. Rheumatolog.-Kongreß Rom 1961. – 11. Friou, G. J., J. Immunol. **80,** 476 (1958). – 12. Friou, G. J., S. C. Finch u. K. D. Detre, J. Immunol. **80,** 324 (1958). – 13. Gsell, O. u. P. Miescher. Immunopathologie S. 468 (Basel/Stuttgart 1959). – 14. Haserick, J. R., L. A. Lewis u. D. W. Bortz, Amer. J. Med. Sci. **219,** 660 (1950). – 15. Hijmans, W., D. Doniach, I. M. Roitt u. E. J. Holborow, Brit. Med. J. **5257,** 909 (1961). – 16. Kievits, J. H., J. Goslings, H. R. E. Schuit u. W. Hijmans, Ann. Rheum. Dis. **15,** 211 (1956). – 17. Krooth, R. S., J. E. Tobie, J. H. Tjio u. H. C. Goodman, Science **134,** 284 (1961). – 18. Kunkel, H. G., H. J. Müller-Eberhard, H. H. Fudenberg u. T. B. Tomasi, J. Clin. Invest. **40,** 117 (1961). – 19. Lee, R. C. u. W. V. Epstein, Arthr. Rheum. **3,** 41 (1960). – 20. Marmont, M. A., A. Piuma u. G. Capponi, Schweiz. med. Wschr. **1957,** 1253 – 21. Mellors, R. C., L. G. Ortega u. H. R. Holman, J. Exper. Med. **106,** 191 (1957). – 22. Miescher, P., Rapp. III. Congr. Int. Allerg. S. 537 (Paris 1958). – 23. Miescher, P., N. S. Cooper u. B. Benacerraf, J. Immunol. **85,** 27 (1960). – 24. Robineaux, R., Immunopathologie S. 416 (Basel/Stuttgart 1959). – 25. Scheiffarth, F. u. W. Frenger, Immunohämatologie (Darmstadt 1961). – 26. Seligman, M., Rev. franç. ét. clin. biol. **3,** 558 (1958). – 27. Singer, J. M. u. C. M. Plotz, Amer. J. Med. **21,** 888 (1956). – 28. Vachtenheim, J., S. Valníček, V. Šmid u. M. Salač, Z. ges. inn. Med. **1960,** 417.

Anschrift der Verfasser:

Prof. Dr. N. Henning, Dr. W. Frenger, Prof. Dr. F. Scheiffarth und Dr. A. Assaf, Erlangen, Med. Univ.-Klinik

Lebenslauf

Am 25. Mai 1931 wurde ich, Antoine Assaf, als Sohn des Geschäftsmannes Chafic Assaf und seiner Ehefrau Wadad Assaf, geborene Haddad, in Roum, Libanon, geboren.

Im Anschluß an die Volksschule besuchte ich das Gymnasium (Collège St. Louis) und machte 1951 mein Baccalauréat, dann studierte ich drei Jahre lang Philosophie.

1955 habe ich mich an der Universität Saarbrücken als stud. med. einschreiben lassen. Zwei Semester später kam ich nach Heidelberg, dort absolvierte ich wiederum zwei Semester.

1957 ging ich nach Erlangen und legte dort im Jahre 1960 an derselben Universität meine ärztliche Vorprüfung ab. Im Sept. 1963 bestand ich hier das medizinische Staatsexamen.